

## 2'-DEOXY-2'@(3754/24)S)-SUBSTITUTED ALKYLCTIDINE DERIVATIVE

Publication number: JP6211890

Publication date: 1994-08-02

Inventor: YOSHIMURA YUICHI; SAITO KAZUKO; ASHIDA NORIYUKI; MATSUDA AKIRA

Applicant: YAMASA SHOYU KK; YOSHITOMI PHARMACEUTICAL

Classification:

- international: A61K31/70; A61K31/7042; A61K31/7052;  
A61K31/7064; A61K31/7068; A61K31/7072;  
A61P35/00; C07H19/06; C07H19/10; C07H19/10;  
A61K31/70; A61K31/7042; A61P35/00; C07H19/00;  
C07H19/00; (IPC1-7): C07H19/06; A61K31/70;  
C07H19/10

- European:

Application number: JP19930003532 19930112

Priority number(s): JP19930003532 19930112

Report a data error here

### Abstract of JP6211890

**PURPOSE:** To obtain the subject derivative consisting of a 2'-deoxy-2'(S)- substituted alkylcytidine derivative, having a cell growth-inhibiting activity, expressing an excellent antitumor activity, useful for the therapy of the malignant tumors of mammals, etc., and used as an antitumor agent, etc.

**CONSTITUTION:** The objective derivative of formula IV (R<3> is H, phosphate salt group) is obtained as follows: epoxidizing the 2'-position of the saccharide part of a compound of formula I (R<1> is OH, amino; Z is protecting group) with a sulfur ylide (e.g. trimethylsulfoxonium iodide), opening the 2'-epoxy ring of the saccharide part of the produced spiro epoxy derivative of formula II with a nucleophilic reagent (e.g. potassium fluoride), acylating the produced 2'-OH group with an acylating agent (e.g. methyloxazolyl chloride), reducing the acylated compound with a reducing agent (e.g. tri n-butyl tin hydride), aminating the 4-basic part of the reduced compound of formula III (R<2> is OH, acyloxy, halogen), removing the protecting group of the saccharide part, and finally phosphating the 5-position of the saccharide part.

---

Data supplied from the [esp@cenet](mailto:esp@cenet) database - Worldwide

(19)日本国特許庁(J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-211890

(43)公開日 平成6年(1994)8月2日

(51)Int.Cl. <sup>8</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 H 19/06				
A 6 1 K 31/70	ADU	8314-4C		
C 0 7 H 19/10				

審査請求 未請求 請求項の数3 O L (全 10 頁)

(21)出願番号 特願平5-3532  
(22)出願日 平成5年(1993)1月12日

(71)出願人 000006770  
ヤマサ醤油株式会社  
千葉県銚子市新生町2丁目10番地の1  
(71)出願人 000006725  
吉富製薬株式会社  
大阪府大阪市中央区平野町2丁目6番9号  
(72)発明者 吉村 祐一  
千葉県銚子市末広町1-12  
(72)発明者 斎藤 和子  
千葉県銚子市新生町1-40-4  
(72)発明者 芦田 則之  
千葉県銚子市栄町2-2-2  
(74)代理人 弁理士 高島 一

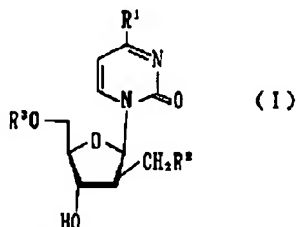
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 2'-デオキシ-2' (S) -置換アルキルシチジン誘導体

(57)【要約】

【構成】 式 (I)

【化1】



(式中、R<sup>1</sup> は水酸基またはアミノ、R<sup>2</sup> は水酸基、アシルオキシまたはハロゲン原子、R<sup>3</sup> は水素原子またはリン酸残基を示す。) で表される 2'-デオキシ-2' (S) -置換アルキルシチジン誘導体またはその塩、その製造法、およびそれを有効成分として含有してなる抗腫瘍剤。

【効果】 本発明化合物は優れた抗腫瘍活性を有する。

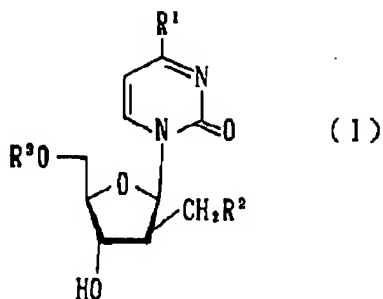
1

2

【特許請求の範囲】

【請求項1】 式(I)

【化1】

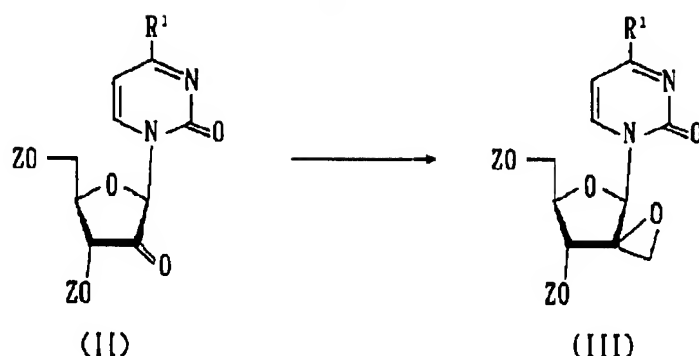


\* (式中、R¹ は水酸基またはアミノ、R² は水酸基、アシルオキシまたはハロゲン原子、R³ は水素原子またはリン酸残基を示す。) で表される2'-デオキシ-2'-(S)-置換アルキルシチジン誘導体またはその塩。

【請求項2】 下記の第1~4工程よりなる、請求項1記載の2'-デオキシ-2'-(S)-置換アルキルシチジン誘導体の製造法。

第1工程：下記式(II)で表される化合物の糖部2'位をイオウイリドによりエポキシ化し、下記式(III)で表される化合物を得る工程。

【化2】

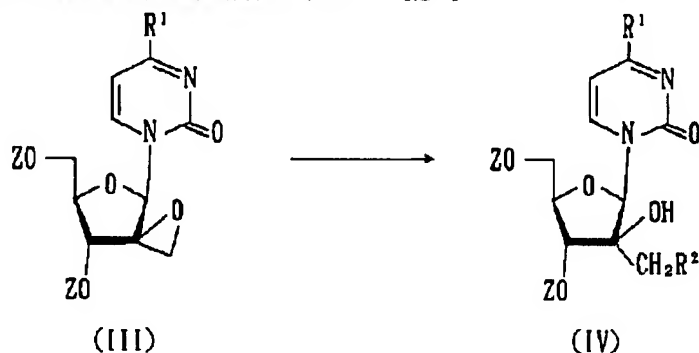


(式中、R¹ は水酸基またはアミノ、Z は保護基を示す。)

第2工程：下記式(III)で表される化合物の糖部2'位※

※のエポキシ環を求核試薬により開環し、下記式(IV)で表される化合物を得る工程。

【化3】

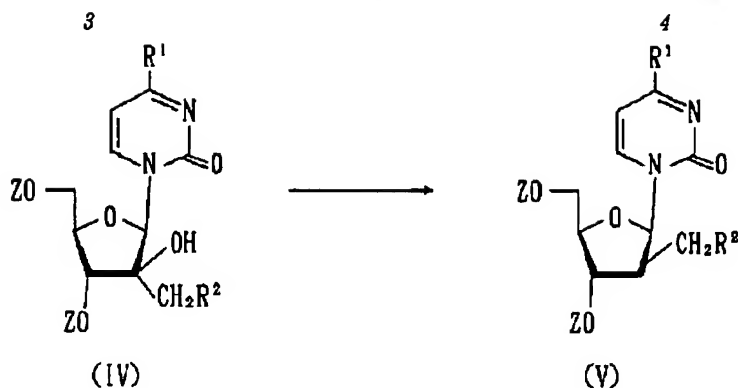


(式中、R² は水酸基、アシルオキシまたはハロゲン原子を示し、R¹ およびZは前記と同意義。)

第3工程：下記式(IV)で表される化合物の2'位水酸

基をアシル化した後、還元剤により還元し、下記式(V)で表される化合物を得る工程。

【化4】

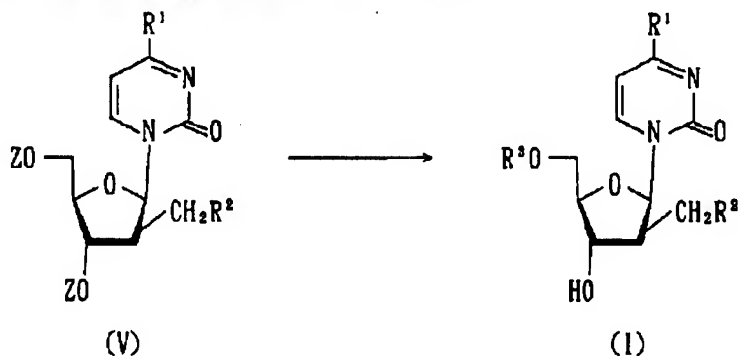


(式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup> およびZは前記と同意義。)

第4工程：下記式(V)で表される化合物の塩基部4位を必要に応じてアミノ化後、糖部保護基を脱保護し、さ\*

\*らに必要に応じて糖部5'位をリン酸化することにより下記式(I)で表される化合物を得る工程。

【化5】



(式中、R<sup>3</sup> は水素原子またはリン酸残基を示し、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup> およびZは前記と同意義。)

【請求項3】 請求項1記載の2'-デオキシ-2'-(S)-置換アルキルシチジン誘導体またはその塩を有効成分として含有してなる抗腫瘍剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、新規化合物、2'-デオキシ-2'-(S)-置換アルキルシチジン誘導体、その製造法、およびそれを有効成分として含有してなる抗腫瘍剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】従来、抗腫瘍活性を有する種々の核酸関連化合物が合成され、そのいくつかは実際の臨床に供されている。しかし、それらの化合物は、抗腫瘍活性のスペクトラムおよび毒性などの副作用などの点で様々な問題を有し、必ずしも満足できるものではない。最近、2'-デオキシ-2'-メチリデンシチジン(特開昭63-230699号公報、特開平2-256698号公報)、2'-デオキシ-2'-フルオロメチリデンシチジン(特開平2-178272号公報)、2'-デオキシ-2'-(S)-C-メチルシチジン(特開昭63-215694号公報、J. Med. Chem., 1991, 34, 234)および2'-C-シアノ-2'-デオキシ-1-β-D-アラビノフラノシルシトシン(特開平4-235182号公

報、J. Med. Chem., 1991, 34, 2917)などの細胞増殖抑制作用を有する2'-置換ピリミジンヌクレオシドが注目され、医薬としての開発が進められている。

【0003】

30 【発明が解決しようとする課題】現在の日本において、癌は三大成人病の一つに挙げられ、その撲滅に向けて多大な時間と金銭が注がれている。しかしながら、その目標を達成するにはほど遠く、例えば肺癌などはその患者数を急激に増加させている。このように、癌の多様性、従来の制癌剤に対する抵抗性などの癌治療における様々な問題を考えると、一種類でも多くの有効な医薬の開発が切望されているのが現状である。そこで本発明の目的は、抗腫瘍剤として有用な新規化合物を提供することである。本発明の他の目的は、当該化合物の製造法を提供することである。本発明のさらに他の目的は、当該化合物の抗腫瘍用途を提供することである。

【0004】

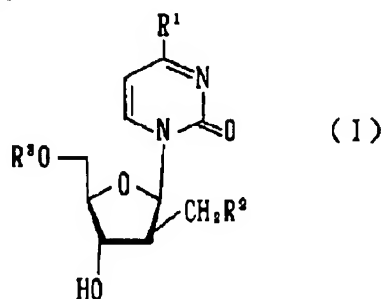
【課題を解決するための手段】本発明者らは、最近注目されている2'-置換ピリミジンヌクレオシドを参考に、上記目的を達成すべく研究を重ねた結果、下記式(I)で表される2'-デオキシ-2'-(S)-置換アルキルシチジン誘導体が優れた抗腫瘍活性を有することを見出した。本発明は、該知見に基づいて完成されたものである。

40 【0005】すなわち、本発明は、式(I)

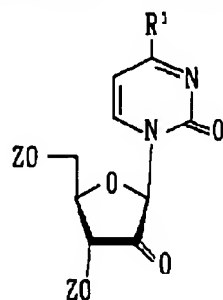
5

【0006】

【化6】



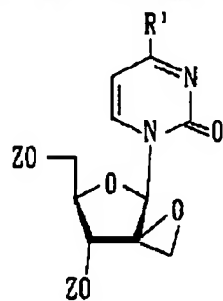
【0007】(式中、R¹ は水酸基またはアミノ、R² は水酸基、アシルオキシまたはハロゲン原子、R³ は水\*



(II)

【0010】(式中、R¹ は水酸基またはアミノ、Zは保護基を示す。)

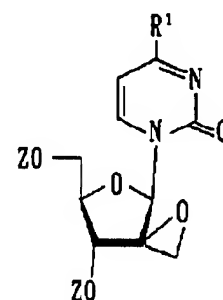
第2工程：化合物(III)の糖部2'位のエポキシ環を求核試薬により開環し、下記式(IV)で表される化合物※



(III)

【0012】(式中、R² は水酸基、アシルオキシまたはハロゲン原子を示し、R¹ およびZは前記と同意義。)

第3工程：化合物(IV)の2'位水酸基をアシル化した

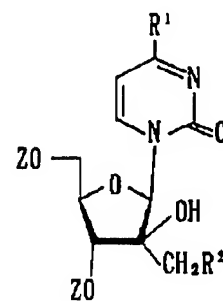


(IV)

※(以下、化合物(IV)という)を得る工程。

【0011】

【化8】



(V)

後、還元剤により還元し、下記式(V)で表される化合物(以下、化合物(V)という)を得る工程。

【0013】

【化9】

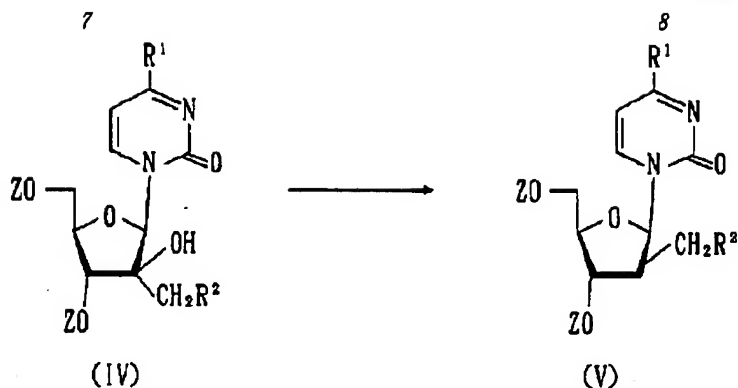
\*素原子またはリン酸残基を示す。)で表される2'-デオキシ-2'-(S)-置換アルキルシチジン誘導体(以下、化合物(I)ということもある)またはその塩に関するものである。

【0008】また、本発明は、下記の第1~4工程よりなる、上記式(I)で表される2'-デオキシ-2'-(S)-置換アルキルシチジン誘導体の製造法に関するものである。

第1工程：下記式(II)で表される化合物(以下、化合物(II)という)の糖部2'位をイオウイリドによりエポキシ化し、下記式(III)で表される化合物(以下、化合物(III)という)を得る工程。

【0009】

【化7】



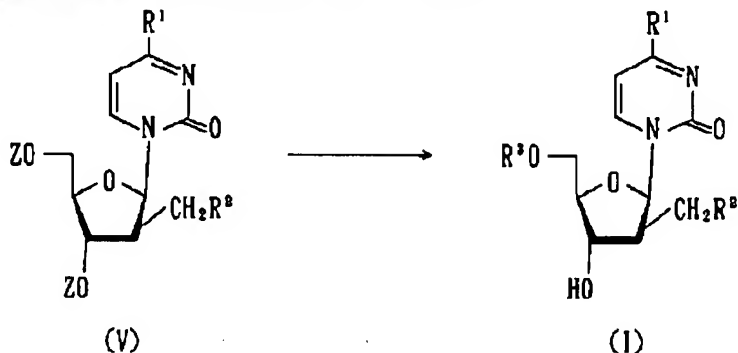
【0014】(式中、 $R^1$ 、 $R^2$  および  $Z$  は前記と同意義。)

第4工程：化合物(V)の塩基部4位を必要に応じてアミノ化後、糖部保護基を脱保護し、さらに必要に応じて\*

\*糖部5'位をリン酸化することにより化合物(I)を得る工程。

【0015】

【化10】



【0016】(式中、 $R^1$  は水素原子またはリン酸残基を示し、 $R^1$ 、 $R^2$  および  $Z$  は前記と同意義。)

【0017】さらに、本発明は、前記式(I)で表される2'-デオキシ-2'-(S)-置換アルキルシチジン誘導体またはその塩を有効成分として含有してなる抗腫瘍剤に関するものである。

【0018】以下、本発明について説明する。

(1) 本発明化合物

本発明化合物の2'-デオキシ-2'-(S)-置換アルキルシチジン誘導体は新規化合物であり、前記式(I)で表される。式(I)中、 $R^2$ のアシルオキシとしては、炭素数1~5のアシルを有するアシルオキシが好ましく、具体的にはホルミルオキシ、アセチルオキシ(アセトキシ)、プロピオニルオキシ、ブチリルオキシ、ピバロイルオキシなどが挙げられる。 $R^2$ のハロゲン原子とは、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素を意味する。

【0019】本発明化合物は塩の形態も包含するものであり、かかる塩としては、例えば前記式(I)の $R^1$ がアミノである場合には、塩酸、硫酸などの無機酸との酸付加塩、もしくはクエン酸、コハク酸などの有機酸との酸付加塩が、 $R^1$ がリン酸残基である場合には、ナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩などのアルカリ土類金属塩、もしくはアンモニウム塩などの医薬上許容される任意の塩がそれ

ぞれ例示される。

【0020】本発明化合物の具体例としては、例えば2'-デオキシ-2'-(S)-フルオロメチルシチジン、2'-デオキシ-2'-(S)-クロロメチルシチジン、2'-デオキシ-2'-(S)-ブロモメチルシチジン、2'-デオキシ-2'-(S)-ヨードメチルシチジン、2'-デオキシ-2'-(S)-アセトキシメチルシチジン、2'-デオキシ-2'-(S)-ヒドロキシメチルシチジンなどの化合物、およびこれらの5'-リン酸エステル、もしくはそれらの塩などが挙げられる。これらの本発明化合物の中でも、 $R^2$ がフッ素である2'-デオキシ-2'-(S)-フルオロメチルシチジンが特に強い抗腫瘍活性を有している。

【0021】(2) 本発明化合物の製造法

本発明化合物は下記の4反応工程により製造することができる。

【0022】(第1工程) 第1工程は、原料化合物(I)の糖部2'位をイオウイリドによりエポキシ化する反応工程である。

【0023】式(II)における $Z$ の保護基は、通常のヌクレオシドの水酸基の保護基として使用されるものであればよく、例えば、アセチル、プロピオニル、ブチリル、ピバロイル、ベンゾイルなどのアシル；ベンジリデンなどのアルキリデン；ベンジル；テトライソプロピル

ジシロキシル (TIPDS)、*t*-ブチルジメチルシリルなどのシリル系保護基; トリフェニルメチル (トリチル)、ジメトキシトリチルなどのトリチル系保護基; テトラヒドロピラニル、メトキシメチルなどのエーテル系保護基などが例示される。

【0024】本工程に使用するイオウイリドは公知の方法に基づき、ジメチルスルホキシド中もしくはテトラヒドロフランとの混合溶媒中、市販のトリメチルスルホキシニウムヨウリドと塩基 (例えば、水素化ナトリウム、水素化カリウムなど) とを反応させる方法により調製できる。

【0025】反応は、化合物 (II) 1モルに対してイオウイリドを2~10モル、好ましくは2~4モル用い、ジメチルスルホキシド中もしくはテトラヒドロフランとの混合溶媒中、アルゴン、窒素などの不活性ガス雰囲気下、室温~100℃で反応させることにより実施することができる。

【0026】このようにして調製された化合物 (III) の単離は、通常のヌクレオシドの分離精製手段を用いればよく、例えば酢酸エチルと水で分配後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、*n*-ヘキサノール酢酸エチルなどの有機溶媒で溶出する方法にて行うことができる。

【0027】(第2工程) 第2工程は、化合物 (III) の2' 位エポキシ環を求核試薬により開環する反応工程である。

【0028】エポキシ環の開環反応に用いる反応の溶媒および求核試薬は、目的とする化合物 (IV) のR<sup>2</sup> によって異なる。例えば、R<sup>2</sup> がハロゲン原子の場合には、反応溶媒としてはメチルセルソルブなどのグリコール系溶媒を、求核試薬としてはフッ化水素カリウムなどのハロゲン化水素カリウム、またはリチウムクロライドなどのハロゲン化リチウムを使用する。また、R<sup>2</sup> が水酸基またはアシルオキシの場合には、反応溶媒としては酢酸、プロピオン酸などの有機酸を、求核試薬としては酢酸ナトリウム、プロピオン酸ナトリウムなどの有機酸塩を使用することができる。反応は、化合物 (III) 1モルに対して求核試薬を2~50モル用い、室温~溶媒還流温度で反応させることにより実施できる。

【0029】前述のようにして製造された化合物 (IV) の単離は、通常のヌクレオシドの分離精製手段を用いればよく、例えば溶媒を留去後、酢酸エチルと水で分配し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより単離することができる。

【0030】(第3工程) 第3工程は、化合物 (IV) の2' 位水酸基をアシル化した後、これを還元剤を用いて還元する反応工程である。

【0031】アシル化剤としては、酢酸、プロピオン酸、酪酸、安息香酸、置換安息香酸、シュウ酸などの酸無水物もしくはそれらの酸塩化物などの通常のアシル化

剤を使用することができ、特に、引き続き行う還元反応を考慮すると、アシル化剤としてメチルオキザリルクロリドを使用するのが好ましい。2' 位のアシル化反応は常法によって行えばよく、例えば、反応溶媒 (ピリジン、ピコリン、ジメチルアミノピリジン、ジメチルホルムアミド、アセトニトリル、塩化メチレン、トリエチルアミンなどの単独または混合溶媒) 中、化合物 (IV) と3~10倍モル量のアシル化剤とを0~50℃で反応させることにより実施できる。

【0032】還元反応における還元剤としては、有機スズ水素化合物が好ましく、例えば、水素化トリ-*n*-ブチルスズ、水素化トリフェニルスズなどが用いられる。還元剤の使用量は化合物 (IV) 1モル当たり1~5倍モル量の範囲内から適宜選択しうる。還元反応は、トルエンなどの有機溶媒中、アゾビスイソブチロニトリルまたはジ-*t*-ブチルペルオキシドなどのラジカル開始剤の存在下、還元剤を50~150℃で反応させることにより実施できる。このようにして合成された化合物 (V) は、通常のシリカゲルカラムクロマトグラフィーなどにて単離することができる。

【0033】(第4工程) 目的物としてR<sup>1</sup> がアミノであるものを得る場合には、必要により化合物 (V) をアミノ化反応に付した後、脱保護を行う。また、目的物としてR<sup>1</sup> が水酸基のものを得る場合には、そのまま化合物 (V) の脱保護を行う。

【0034】アミノ化反応は常法に従って行えばよく、例えば、アセトニトリル中トリエチルアミン存在下、オキシ塩化リンおよびトリアゾールより調製される試薬と化合物 (V) を反応させ、塩基部4位を一旦トリアゾール化した後、アンモニア水あるいはアンモニアガスと反応させることにより行うことができる。反応温度はともに0~50℃である。脱保護は使用した保護基に応じた酸性加水分解、アルカリ性加水分解、フッ化テトラブチルアンモニウム処理、接触還元などの通常の処理を適宜選択して行えばよい。

【0035】また、R<sup>3</sup> がリン酸残基である化合物の製造を目的とする場合には、上述の脱保護終了後、通常のヌクレオシドの5' 位選択的リン酸化に使用されるリン酸化剤 (オキシ塩化リン、テトラクロロピロリン酸など) と反応させて、常法により遊離酸型または塩型の目的化合物を得ることができる。

【0036】このようにして合成される本発明化合物は、一般のヌクレオシド、ヌクレオチドの単離精製に使用されている方法を適宜組み合わせで分離精製することができる。例えば、ヌクレオシド体 (R<sup>3</sup> が水素原子) の場合には溶媒留去後、エタノールなどの適当な溶媒から結晶化すればよく、必要に応じて塩型として得ることもできる。ヌクレオチド体 (R<sup>3</sup> がリン酸残基) の場合にはイオン交換カラムクロマトグラフィー、活性炭などの吸着カラムクロマトグラフィーなどにより精製し、凍

結乾燥または結晶化により遊離酸型を得ることができ、必要に応じて塩型として得ることもできる。

#### 【0037】(3) 本発明化合物の用途

本発明化合物は抗腫瘍活性を有し、ヒト、ウシ、ウマ、イヌ、マウス、ラットなどの哺乳動物に対する悪性腫瘍の治療に有用である。また、腫瘍の治療のために経口、経腸、非経口、局所投与などのいずれの経路によっても投与することができる。投与量は、患者の年齢、病態、体重などによって適宜決定されるが、通常は1日当たり0.1~1000mg/kg体重、好ましくは1~1000mg/kg体重の範囲内から選ばれ、一回または複数回に分けて投与される。

【0038】本発明化合物の製剤化に際しては、通常使用される製剤用担体、賦形剤、その他の添加剤を含む組成物として使用するのが普通である。担体としては、乳糖、カオリン、ショ糖、結晶セルロース、コーンスターチ、タルク、寒天、ペクチン、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム、レシチン、塩化ナトリウムなどの固体状担体、グリセリン、落花生油、ポリビニルピロリドン、オリーブ油、エタノール、ベンジルアルコール、プロピレングリコール、水などの液状担体を例示することができる。

【0039】剤型としては任意の形態を採ることができ、例えば固体状担体を使用する場合には錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル化剤、坐剤、トローチ剤などを、液状担体を使用する場合にはシロップ、乳液、軟ゼラチンカプセル、クリーム、ゲル、ペースト、スプレー、注射などをそれぞれ例示することができる。

#### 【0040】

【実施例】以下、実施例を示し、本発明を具体的に説明する。

【0041】実施例1：2'-デオキシ-2'-(S)-フルオロメチルシチジン【式(I)】、 $R^1 = NH_2$ 、 $R^2 = F$ 、 $R^3 = H$ 】の製造

(1) 1-[3,5-ジ-オ-トリチル-2,2'-(S)-スビロエボキシ-β-D-エリスロ-ペンタフラノシル]ウラシル【式(III)】、 $R^1 = OH$ 、 $Z = \text{トリチル}(Tr)$ 】の合成

トリメチルスルホキシニウムヨード7.75gをDM SO-THF(1:1)100mlに懸濁し、これに60%水素化ナトリウム1.28gを加えアルゴン気流下、45分間90℃に保った。室温にまで冷却した後、3',5'-ジ-オ-トリチル-2'-ケトウリジン【式(II)】、 $R^1 = OH$ 、 $Z = Tr$ 】9.33gを溶解したTHF溶液50mlを加え、アルゴン気流下室温で30分間攪拌した。1N塩化アンモニウム水で反応を止めた後、酢酸エチルにより抽出し、有機層を乾燥した。溶媒を留去後、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、50%酢酸エチル-n-ヘキサンで溶出された部分を集めて濃縮し、目的物6.16g(収率65%)

を得た。

【0042】 $^1H-NMR$ ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.04(1H, brs), 7.37-7.20(31H, m), 6.70(1H, s), 5.26(1H, dd,  $J=2.0, 8.3Hz$ ), 4.25-4.22(1H, m), 4.07(1H, d,  $J=2.0Hz$ ), 3.04(1H, dd,  $J=3.2, 10.5Hz$ ), 2.92(1H, dd,  $J=5.6, 10.5Hz$ ), 2.52(1H, dd,  $J=4.4Hz$ ), 2.23(1H, d,  $J=4.4Hz$ )

【0043】(2) 1-[3,5-ジ-オ-トリチル-2-フルオロメチル-β-D-アラビノフラノシル]ウラシル【式(IV)】、 $R^1 = OH$ 、 $R^2 = F$ 、 $Z = Tr$ 】の合成  
前述のスビロエボキシ体3.09gをメチルセルソルブ80mlに溶解し、これにフッ化水素カリウム3.26gを加え、アルゴン気流下1日還流した。溶媒を留去した後、残渣を酢酸エチルに溶解し、水洗、乾燥した。濾過後、濾液を濃縮乾固し、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、50%酢酸エチル-n-ヘキサンで溶出された部分を濃縮し、目的物1.33g(収率42%)を得た。

【0044】 $^1H-NMR$ ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.17(1H, brs), 7.47(1H, d,  $J=8.3Hz$ ), 7.44-7.22(30H, m), 6.39(1H, s), 5.50(1H, d,  $J=2.0, 8.3Hz$ ), 4.64(1H, dd,  $J=10.3, 20.0Hz$ ), 4.53(1H, dd,  $J=9.8, 20.5Hz$ ), 4.02(1H, d,  $J=1.5Hz$ ), 3.98(1H, t,  $J=2.0Hz$ ), 3.54(1H, brs), 3.10(1H, dd,  $J=2.4, 10.7Hz$ ), 2.96(1H, dd,  $J=4.4, 10.7Hz$ )

【0045】(3) 1-[2-デオキシ-3,5-ジ-オ-TIPDS-2-フルオロメチル-β-D-アラビノフラノシル]ウラシル【式(V)】、 $R^1 = OH$ 、 $R^2 = F$ 、 $Z = TIPDS$ 】の合成

前述のフルオロメチル体1.02gを80%酢酸に懸濁し、80℃に2時間保った。溶媒を留去した後、残渣をトルエン、ピリジンで共沸し、ピリジン15mlに溶解した。この溶液に1,3-ジクロロ-1,1,3,3-テトライソプロピルジシロキサン0.63mlを加え、アルゴン気流下、室温で一晩攪拌した。溶媒を留去した後、残渣を酢酸エチルに溶解し、水洗、乾燥し、更に濃縮を行い、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトに付し、33%酢酸エチル-n-ヘキサンにより溶出された部分を濃縮し、3',5'-ジ-オ-TIPDS-2'-フルオロメチル体0.41g(収率59%)を得た。このTIPDS体360mgを塩化メチレン10mlに溶解し、これに4-ジメチルアミノピリジン254mg、塩化メチルオキザリル0.19mlを加えてアルゴン気流下、室温で一晩攪拌した。水を加えて反応を停止した後、クロロホルムにより抽出し、乾燥し、溶媒を留去した。残渣をトルエン15mlに溶解し、これに水素化トリブチルチン0.56ml、アゾイソビスブチロニトリル30mgを加え、アルゴン気流下2時間還流した。溶媒を留去した後、残渣をシリカゲルカラムにより精製し、20%酢酸エチル-n-ヘキサンにより溶出さ



13

れた部分を濃縮し、目的物353mg (100%)を得た。

【0046】<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.34 (1H, brs), 7.75 (1H, d, J=8.3Hz), 6.30 (1H, d, J=7.3Hz), 5.67 (1H, dd, J=2.0, 8.3Hz), 4.83-4.51 (3H, m), 4.19 (1H, dd, J=1.0, 13.7Hz), 4.06 (1H, dd, J=2.9, 13.7Hz), 3.84-3.79 (1H, m), 2.76-2.64 (1H, m), 1.11-0.98 (28H, m)

【0047】(4) 2'-デオキシ-2' (S)-フルオロメチルシチジン [式 (I), R<sup>1</sup>=NH<sub>2</sub>, R<sup>2</sup>=F, R<sup>3</sup>=H] の合成

オキシ塩化リン0.216mlとトリアゾール534mgを溶解したアセトニトリル溶液(10ml)に、アルゴン気流下、0℃においてトリエチルアミン1.08mlを加え、室温で1時間撹拌した。析出した沈殿をアルゴン気流下濾去した後、濾液に前述の還元体353mgを加え、室温で一晩撹拌した。この溶液に濃アンモニア水10mlを加え、1時間撹拌した後、アセトニトリルを留去、クロロホルムにより抽出した。有機層を乾燥した後、溶媒を濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、4%メタノール-クロロホルムにより溶出された部分を濃縮し、シチジン体208mg (収率59%)を得た。このシチジン体200mgをTHF7mlに溶解し、これにテトラブチルアンモニウムフロライドTHF溶液0.8mlを加え、室温で30分間撹拌した。減圧下、溶媒を留去した後、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、16%メタノール-クロロホルムにより溶出された部分を濃縮した。更に、残渣をイオン交換クロマトグラフ(Dowex 50Wx8)にアプライし、0-0.1Nアンモニア水の直線濃度勾配により溶出し、得られた画分を濃縮し、目的物63mg (収率61%)を得た。またエタノールより結晶化することにより、分析的に純粋な化合物を得た。

【0048】融点:>180℃ (分解)

元素分析値: C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Fとして

計算値 C: 46.33, H: 5.44, N: 16.21

実測値 C: 46.13, H: 5.49, N: 15.93

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O) δ: 7.85 (1H, d, J=7.8Hz), 6.37 (1H, d, J=7.3Hz), 6.04 (1H, d, J=7.8Hz), 4.63-4.64 (2H, m, J<sub>ax</sub>=46.9Hz), 4.26 (1H, t, J=8.3Hz), 4.01 (1H, dd, J=2.4, 12.5Hz), 3.98-3.94 (1H, m), 3.87 (1H, dd, J=4.4, 12.5Hz), 3.00-2.86 (1H, m)

【0049】実施例2: 2'-デオキシ-2' (S)-ヒドロキシメチルシチジン [式 (I), R<sup>1</sup>=NH<sub>2</sub>, R<sup>2</sup>=OH, R<sup>3</sup>=H] の製造

以下の(1)および(2)記載の化合物に関しては、Chem. Pharm. Bull., 33, 3617 (1985)に報告された既知化合物である。

14

(1) 1-[3, 5-ジ-*O*-TIPDS-2, 2' (S)-スピロエポキシ-β-D-エリスロ-ペンタフラノシル] ウラシル [式 (III), R<sup>1</sup>=OH, Z=TIPDS] の合成

トリメチルスルホキソニウムヨード6.10gをDM SO-THF (1:1) 80mlに懸濁し、これに60%水素化ナトリウム1.10gを加えアルゴン気流下、45分間90℃に保った。室温にまで冷却した後、3', 5'-ジ-*O*-トリチル-2'-ケトウリジン [式 (II), R<sup>1</sup>=OH, Z=TIPDS] 4.90gを溶解したTHF溶液40mlを加え、アルゴン気流下室温で1時間撹拌した。1N塩化アンモニウム水で反応を止めた後、酢酸エチルにより抽出を行い、有機層を乾燥した。溶媒を留去後、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、33%酢酸エチル-*n*-ヘキサンで溶出された部分を集め、濃縮し、目的物4.00g (収率79%)を得た。

【0050】元素分析値: C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>Si<sub>2</sub>・1/2H<sub>2</sub>Oとして

計算値 C: 45.11, H: 6.06, N: 15.78

実測値 C: 44.95, H: 6.06, N: 15.54

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.29 (1H, brs), 7.44 (1H, d, J=8.3Hz), 6.20 (1H, s), 5.74 (1H, dd, J=2.0, 8.3Hz), 4.48 (1H, d, J=9.3Hz), 4.14 (1H, dd, J=2.4, 13.2Hz), 4.08 (1H, d, J=2.9, 13.2Hz), 3.91-3.87 (1H, m), 3.24 (1H, d, J=5.4Hz), 3.00 (1H, d, J=5.4Hz), 1.12-0.92 (28H, m)

【0051】(2) 1-[3, 5-ジ-*O*-TIPDS-2-アセトキシメチル-β-D-アラビノフラノシル] ウラシル [式 (IV), R<sup>1</sup>=OH, R<sup>2</sup>=OCOC H<sub>3</sub>, Z=TIPDS] の合成

前述のスピロエポキシ体2.59gを酢酸60mlに溶解し、これに酢酸ナトリウム4.92gを加え、アルゴン気流下、100℃に2時間保った。室温にまで冷却した後、溶媒を留去、残渣を酢酸エチルに溶解し、水、飽和炭酸水素ナトリウム溶液、飽和食塩水で洗い、有機層を乾燥した。溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、33%酢酸エチル-*n*-ヘキサンにより溶出された部分を濃縮し、目的物1.91g (収率58%)を得た。

【0052】<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.59 (1H, brs), 7.76 (1H, d, J=8.3Hz), 5.99 (1H, s), 5.70 (1H, dd, J=2.0, 8.3Hz), 4.52 (1H, d, J=12.2Hz), 4.42 (1H, d, J=12.2Hz), 4.30 (1H, d, J=9.3Hz), 4.15 (1H, dd, J=2.0, 13.2Hz), 3.99 (1H, dd, J=2.9, 13.2Hz), 3.84-3.81 (1H, m), 3.48 (1H, brs), 2.18 (3H, s), 1.11-0.97 (28H, m)

【0053】(3) 1-[2-デオキシ-3, 5-ジ-

O-TIPDS-2-アセトキシメチル-β-D-アラビノフラノシル] ウラシル [式 (V),  $R^1 = OH$ ,  $R^2 = OCOCH_3$ ,  $Z = TIPDS$ ] の合成

前述のアセトキシメチル体 1.91 g を塩化メチレン 50 ml に溶解し、これに 4-ジメチルアミノピリジン 1.26 g、塩化メチルオキザリル 0.947 ml を加えアルゴン気流下、室温で一晩撹拌した。水を加え反応を停止した後、クロロホルムにより抽出し、乾燥し、溶媒を留去した。残渣をトルエン 70 ml に溶解し、これに水素化トリブチルチン 2.77 ml、アソイソビスブチロニトリル 20 mg を加え、アルゴン気流下 1 時間還流した。1 時間後、アソイソビスブチロニトリル 20 mg を加え、再び 1 時間還流し、更に 1 時間後、同操作を繰り返して行った。1 時間後、室温にまで冷却し、溶媒を留去した後、残渣をシリカゲルカラムにより精製し、3% 酢酸エチル-*n*-ヘキサンにより溶出された部分を濃縮し、目的物 1.55 g (収率 83%) を得た。

【0054】融点: 140.0-142.0°C

元素分析値:  $C_{24}H_{42}N_2O_8Si_2$  として

計算値 C: 53.11, H: 7.80, N: 5.16

実測値 C: 53.30, H: 7.87, N: 5.41

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.32 (1H, brs), 7.79 (1H, d,  $J=8.3$ Hz), 6.30 (1H, d,  $J=7.3$ Hz), 5.70 (1H, dd,  $J=2.4, 8.3$ Hz), 4.45 (1H, dd,  $J=8.8, 10.8$ Hz), 4.43 (1H, dd,  $J=2.0, 12.5$ Hz), 4.20 (2H, m), 4.05 (1H, dd,  $J=2.9, 13.7$ Hz), 3.81 (1H, dd,  $J=2.4, 8.3$ Hz), 2.88-2.82 (1H, m), 1.89 (3H, s), 1.12-1.00 (28 H, m)

【0055】(4) 2'-デオキシ-2' (S)-ヒドロキシメチルシチジン [式 (I),  $R^1 = NH_2$ ,  $R^2 = OH$ ,  $R^3 = H$ ] の合成

オキシ塩化リン 0.308 ml とトリアゾール 543 mg を溶解したアセトニトリル溶液 (10 ml) に、アルゴン気流下 0°C においてトリエチルアミン 1.53 ml を加え、室温で 1 時間撹拌した。析出した沈澱をアルゴン気流下濾去した後、濾液に前述の還元体 543 mg を加え、室温で一晩撹拌した。この溶液に濃アンモニア水 5 ml を加え、1 時間撹拌した後、アセトニトリルを留去、クロロホルムにより抽出した。有機層を乾燥した後、溶媒を濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、4% メタノール-クロロホルムにより溶出された部分を濃縮し、シチジン体 241 mg (収率 49%) を得た。このシチジン体 214 mg を THF 7 ml に溶解し、これにテトラブチルアンモニウムフロライドの THF 溶液 0.79 ml を加え、室温で 15 分間撹拌した。減圧下、溶媒を留去した後、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、16% メタノール-クロロホルムにより溶出された部分を濃縮した。得られた残渣をメタノール 5 ml に溶解し、これに濃アンモニア水を 5 ml 加え、室温で 5 時間撹拌した。溶媒を留去し、残

渣を水に溶解し、イオン交換クロマトグラフ (Dowex 50Wx8) にアプライし、0-0.1N アンモニア水の直線濃度勾配により溶出し、得られた画分を濃縮することにより、目的物 73 mg (収率 72%) を得た。またイソプロパノールより結晶化することにより、分析的に純粋な化合物を得た。

【0056】融点: 178.0-179.0°C

元素分析値:  $C_{10}H_{16}N_2O_6 \cdot 1/2 H_2O$  として

計算値 C: 52.04, H: 7.74, N: 5.52

実測値 C: 51.93, H: 7.43, N: 5.56

$^1H$ -NMR ( $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 7.90 (1H, d,  $J=7.3$ Hz), 7.17, 7.10 (2H, brs), 6.09 (1H, d,  $J=6.8$ Hz), 5.69 (1H, d,  $J=7.3$ Hz), 5.22 (1H, brd,  $J=5.4$ Hz), 5.05 (1H, brt,  $J=5.1$ Hz), 4.42 (1H, brdd,  $J=3.7, 7.6$ Hz), 3.88-3.85 (1H, m), 3.76-3.58 (3H, m), 3.43-3.38 (1H, m), 3.18-3.12 (1H, m), 2.52-2.45 (1H, m)

【0057】実施例 3: 2'-デオキシ-2' (S)-アセトキシメチルシチジン [式 (I),  $R^1 = NH_2$ ,  $R^2 = OCOCH_3$ ,  $R^3 = H$ ] の製造

オキシ塩化リン 0.308 ml とトリアゾール 543 mg を溶解したアセトニトリル溶液 (10 ml) に、アルゴン気流下 0°C においてトリエチルアミン 1.53 ml を加え、室温で 1 時間撹拌した。析出した沈澱をアルゴン気流下濾去した後、濾液に実施例 2 の (3) で得られた 1-[2-デオキシ-3, 5-ジ-*O*-TIPDS-2-アセトキシメチル-β-D-アラビノフラノシル] ウラシル 543 mg を加え、室温で一晩撹拌した。この溶液に濃アンモニア水 5 ml を加え、1 時間撹拌した後、アセトニトリルを留去、クロロホルムにより抽出した。有機層を乾燥した後、溶媒を濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、4% メタノール-クロロホルムにより溶出された部分を濃縮し、シチジン体 241 mg (収率 49%) を得た。このシチジン体 0.68 g を THF 10 ml に溶解し、これにテトラブチルアンモニウムフロライドの THF 溶液 2.5 ml を加え、室温で 1 時間撹拌した。減圧下、溶媒を留去した後、残渣をシリカゲルカラムクロマト (16% メタノール-クロロホルムにより溶出) により精製して目的物 0.13 g (収率 34%) を得た。

【0058】元素分析値:  $C_{12}H_{17}N_3O_6 \cdot H_2O$  として

計算値 C: 45.75, H: 5.70, N: 12.74

実測値 C: 45.42, H: 5.40, N: 13.24

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.83 (1H, d,  $J=7.3$ Hz), 7.08 (2H, brd,  $NH_2$ ), 6.16 (1H, brd,  $J=7.3$ Hz), 5.68 (1H, d,  $J=7.3$ Hz), 5.40 (1H, d,  $J=5.4$ Hz), 5.06 (1H, brt,  $J=4.9$ Hz), 4.01-3.59 (4H, m), 2.69-2.66 (1H, m), 1.84 (3H, s)

【0059】実施例4: 2'-デオキシ-2' (S)-フルオロメチルシチジン-5'-リン酸〔式(I), R<sup>1</sup> = NH<sub>2</sub>, R<sup>2</sup> = F, R<sup>3</sup> = リン酸残基〕の製造

実施例1で得た2'-デオキシ-2' (S)-フルオロメチルシチジン2.5gをトリメチルリン酸60mlに加えて冷却し、これに1.6gのオキシ塩化リンを滴下し、さらに1時間攪拌した。この反応液を炭酸水素ナトリウムを含む氷水中に注加し、そのまま1時間攪拌し、エーテルを加えて分配した。水相を濃縮し、アニオン交換樹脂を用いて目的化合物を精製し、凍結乾燥して2'-

デオキシ-2' (S)-フルオロメチルシチジン-5'-リン酸を得た。

【0060】試験例1: 細胞増殖抑制効果  
下記の方法にて本発明化合物の細胞増殖抑制効果を試験\*

$$\text{阻止率 (\%)} = \left(1 - \frac{Tx - Co}{Cx - Co}\right) \times 100$$

Tx: サンプル含有ウェルの培養終了時の吸光度

Cx: サンプル非含有(対照)ウェルの培養終了時の吸光度

Co: サンプル非含有(対照)ウェルの培養開始時の吸光度

【0062】(4) 増殖阻止率をサンプル濃度に対して用量効果グラフ用紙上にプロットし、用量-増殖曲線から50%阻止率を示すサンプル濃度(ID<sub>50</sub>)を求め、その結果、CCRF-HSB-2に対する実施例1で合成した2'-デオキシ-2' (S)-フルオロメチ

\*した。

(1) ヒト急性リンパ芽球性白血病細胞(T-細胞) CCRF-HSB-2を10%牛胎児血清添加RPMI 1640培地で培養し、対数増殖期に1.1×10<sup>5</sup>個/mlになるように培地で希釈する。

(2) 培養試験管に上記細胞希釈液0.9mlを採り、培地またはPBSを用いて0.510g<sub>10</sub>段階希釈したサンプル溶液0.1mlを加え、37℃で4日間炭酸ガスインキュベーター中で培養する。

(3) 培養終了後、各チューブの細胞数をセルカウンター(Sysmexマイクロセルカウンター, F-300型)により計測し、次式により増殖阻止率を求める。

【0061】

【数1】

ルシチジンのID<sub>50</sub>は、0.030μg/mlであった。

【0063】

【発明の効果】本発明化合物は優れた抗腫瘍活性を有しているものである。

フロントページの続き

(72)発明者 松田 彰

北海道札幌市北区北24条西12-1-7-

501